

IL RILEVAMENTO DELL'ELEMENTO PIOMBO
NELL'AMBIENTE MEDIANTE L'USO DELLA CELLA
PEDOTROFICA DI *OSMIA CORNUTA*
(HYMENOPTERA, MEGACHILIDAE)

DETECTION OF LEAD IN THE ENVIRONMENT
BY USING THE PEDOTROPHIC CELL OF *OSMIA CORNUTA*
(HYMENOPTERA, MEGACHILIDAE)

ANTONIO FELICOLI⁽¹⁾, GIANLUCA BEDINI⁽²⁾,
MIRKO SOCI⁽²⁾, MAURO PINZAUTI⁽²⁾

RIASSUNTO

Questo lavoro si inserisce nell'ambito di uno studio più vasto delle interazioni tra gli imenotteri apoidei e l'ambiente ove essi vivono e si riproducono, anche alla luce del rinnovato interesse ad allevare ed utilizzare apoidei del genere *Osmia* sp. per il monitoraggio della biodiversità e più recentemente anche come potenziale bioindicatore di pesticidi e di elementi metalli.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di indagare la presenza dell'elemento piombo nelle cinque matrici raccolte nell'ambito della cella pedotrofica di *osmia*. In particolare sono stati raccolti il fango utilizzato dalle femmine di *osmia* per sigillare la cella pedotrofica, il polline raccolto e immagazzinato nella cella pedotrofica come scorta alimentare dalle stesse, l'insetto in toto nel suo stadio di immagine, il bozzolo sericeo secreto dall'ultimo stadio larvale e le feci escrete dalla stessa.

Le diverse matrici di cella pedotrofica sono state campionate da nidi precedentemente collocati ad arte in una area già in uso per l'allevamento di *Osmia cornuta*.

Le analisi sono state eseguite mediante la tecnica della spettrometria ottica in emissione con plasma accoppiato induttivamente (ICP-OES).

La cella pedotrofica può essere considerata un sistema chiuso dove tutto ciò che la femmina di *osmia* vi introduce (polline) viene consumato e metabolizzato dall'*osmia* nascitura. Pertanto eventuali metalli rilevati nella cella pedotrofica con il polline devono poter esser ritrovati nell'ambito delle restanti tre matrici considerate (insetto, bozzolo e feci). In questo studio è stato preso in esame l'elemento piombo presente nell'agroecosistema indagato.

Dalle analisi polliniche è stato possibile risalire alla fitocenosi frequentata dalle femmine di *osmie*.

Questi risultati, anche se preliminari consentono di individuare nell'*osmia* un interessante modello sperimentale per l'impiego di questi imenotteri apoidei nel monitoraggio ambientale dei metalli.

Parole chiave: biomonitoraggio, piombo, cella pedotrofica, *Osmia cornuta*.

⁽¹⁾ Dipartimento di Anatomia, Biochimica e Fisiologia Veterinaria, Direttore Prof. Franco Martelli.

⁽²⁾ Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose, Direttore Prof. Giovanni Vannacci.

SUMMARY

This investigation has become part of the wider study of interaction between Hymenoptera Apoidea and the environment where they live and reproduce, even in the light of the new interest for rearing and for using Apoidea of the genus *Osmia* sp., for monitoring the biodiversity and recently as a bioindicator of pesticides and heavy metals.

The aim of this study was to investigate the possibility of detecting environmental lead by using the *Osmia cornuta* pedotrophic cell. Soil, pollen provisions, cocoons, the whole insect as imago and feces were sampled within the pedotrophic cell.

Analysis were made with inductive coupling plasma-optic emission spectroscopy technique (ICP-OES).

In this investigation the pedotrophic cell is considered as a closed system, where everything introduced with pollen by the nesting *Osmia* female is entirely consumed and metabolized by the new hatched larva.

Therefore lead that is in the pollen provision which is entirely consumed by the *Osmia* larva should be found in the new insect or in the cocoon or in the feces or in all of them.

Results show that the same amount of lead that was into the pollen provision is equally distributed throughout the three samples of the pedotrophic cell.

This preliminary investigation allows to us propose the pedotrophic cell of *Osmia cornuta* as a potential suitable tool for the biomonitoring of environmental metals.

Key words: biomonitoring, lead, pedotrophic cell, *Osmia cornuta*.

INTRODUZIONE

Un buon indicatore biologico è un organismo di facile reperimento e gestione, che reagisce in maniera osservabile alle modificazioni del suo ambiente; la sua risposta deve inoltre porsi ad una soglia di sensibilità piuttosto bassa, e in qualche modo proporzionale alla intensità della modificazione (Celli, 1993).

L'ape da diversi anni è considerata per le sue caratteristiche un ottimo organismo indicatore. A differenza di altri bioindicatori per lo più immobili, l'ape si può definire un sensore viaggiante. In questi suoi viaggi di andata e ritorno dall'alveare è instancabile nella sua attività di raccolta di svariate sostanze come nettare, polline, melata e acqua. Con questo lavoro di raccolta l'ape preleva anche molecole inquinanti eventualmente presenti nell'ambiente frequentato (Celli & Porrini, 1991). Durante il volo, con il suo corpo peloso, intercetta le particelle e gli eventuali inquinanti aerodispersi presenti nell'aria e trasportandoli all'alveare li rende disponibili per l'indagine analitica (Lorenzini & Pinzauti, 1998).

Il presente lavoro si inserisce nell'ambito di uno studio più vasto delle interazioni tra gli imenotteri apoidei e l'ambiente ove essi vivono e si riproducono, anche alla luce del rinnovato interesse al monitoraggio della biodiversità vegetale e all'utilizzo degli apoidei del genere *Osmia* come bioindicatori di metalli pesanti (Antognoni et al., 2005).

Scopo di questo lavoro è quello di indagare la presenza di piombo e del suo

destino nelle cinque matrici raccolte nell'ambito della cella pedotrofica di osmia. In particolare sono stati raccolti il fango utilizzato dalle femmine di osmia per sigillare la cella pedotrofica, il polline raccolto e immagazzinato nella cella pedotrofica come scorta alimentare dalle stesse, l'insetto nascituro in toto nel suo stadio di immagine, il bozzolo sericeo secreto dall'osmia nascita e le feci escrete dalla stessa.

MATERIALI E METODI

Le celle pedotrofiche di *O. cornuta* sono state ottenute da nidi trappola artificiali del tipo "nido canna" (Felicoli, 2000) previamente collocati nell'ambito di una campagna di "releasing and rearing" (Felicoli, 2000) svolta in un ecosistema in località di Fosdinovo (MS) già utilizzato per l'allevamento di questo Apoideo e costituito da un agroecosistema pedemontano ubicato a 500 m sul livello del mare. La zona è a prevalenza agricola (vite ed olivo) con vaste aree a bosco ceduo (castagno e quercia).

I nidi trappola artificiali sono costituiti da affastellamenti di un certo numero di canne (variabile fra 50 e 100) di *Arundo donax* (diametro interno variabile compreso fra i 10 ed i 14 mm) e *Phragmites australis* (diametro interno compreso fra i 2 e 10 mm).

Nel novembre 2003 sono stati collocati nell'area indagata tre nidi trappola artificiali. I nidi sono stati posti ad un'altezza di circa due metri con i tunnel in posizione orizzontale.

Nel febbraio 2004, nella stessa area in cui sono stati collocati i nidi artificiali, sono stati rilasciati circa 200 bozzoli di *Osmia cornuta* (Fig. 1) con una sex-ratio di 1:1 provenienti da un'attività di "releasing and rearing" dell'anno precedente.

Le osmie una volta fuoriuscite dal bozzolo hanno iniziato la loro attività trofica e si sono accoppiate. Le femmine, accoppiatesi o meno, nell'arco di alcuni giorni hanno iniziato la loro attività di nidificazione utilizzando i nidi artificiali da noi collocati (Fig. 2).

Nel giugno 2004 i nidi risultati occupati sono stati collezionati e posti a temperatura ambiente presso i laboratori di Apidologia del Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose dell'Università di Pisa per permettere il completamento dello sviluppo larvale e qui lasciati fino al mese di settembre dello stesso anno quando ormai lo sviluppo larvale risultava completo e gli insetti avevano raggiunto lo stadio di immagine.

Nei mesi di settembre, ottobre e novembre 2004 le canne, appartenenti ai nidi provenienti dalla stazione indagata, sono state aperte così da prelevare le matrici da sottoporre ad analisi quantitativa per la ricerca dell'elemento piombo. L'apertura delle canne è stata effettuata tramite un taglio in senso longitudinale e dalle singole celle pedotrofiche rilevate all'interno delle canne aperte sono state prelevati i setti divisorii di terra, i bozzoli contenenti l'ape oramai allo stato di immagine e le feci. Inoltre da quelle celle dove l'uovo di osmia per un qualche motivo non è schiuso è stata prelevata l'intera scorta di polline. I bozzoli sono stati poi a loro volta aperti e l'ape viva oramai in diapausa, estratta. Per ogni cella pedotrofica quindi sono stati ottenute

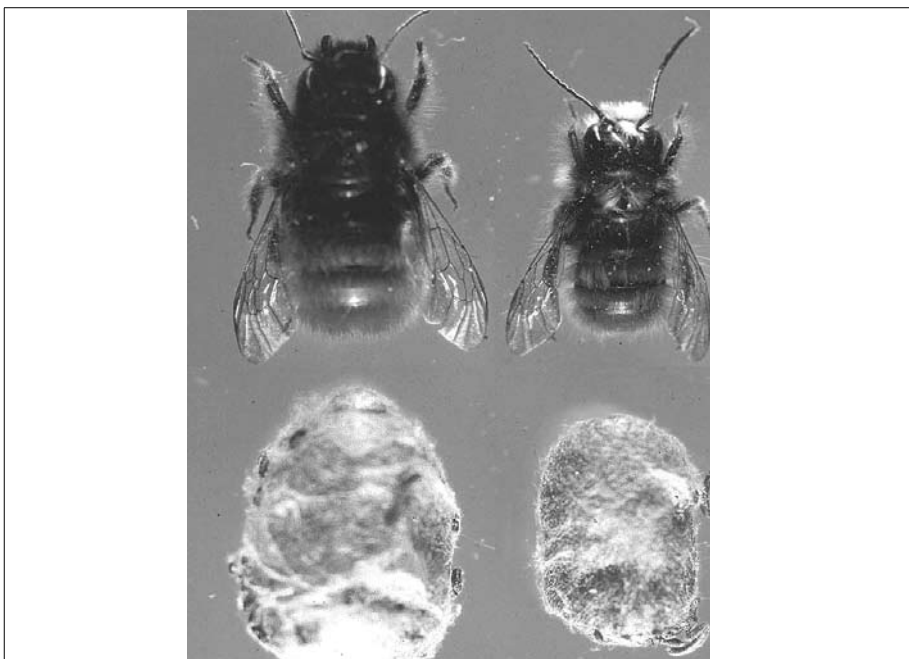


Fig. 1. *Osmia cornuta* Latr. femmina con relativo bozzolo (sx) e maschio con relativo bozzolo (dx). *Osmia cornuta* Latr. female imago with her cocoon (sx) and male imago with its cocoon (dx).

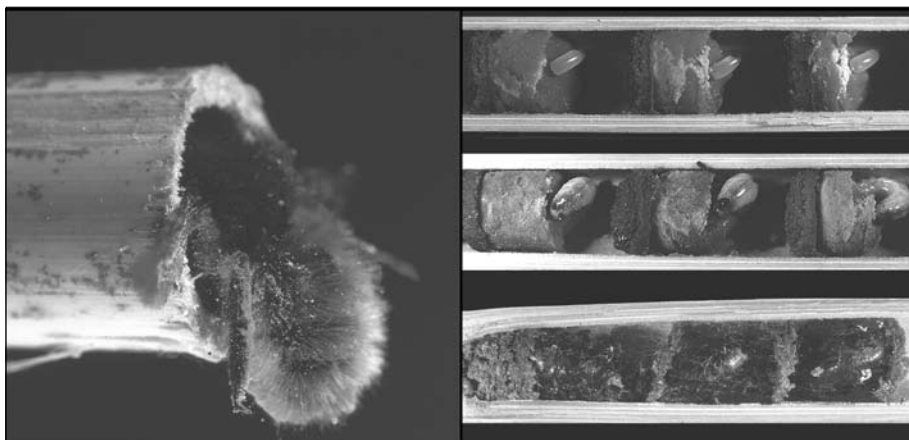


Fig. 2. (Sx) *Osmia cornuta* Latr.: rientro di una femmina al nido. Dx Nido di *Osmia cornuta* aperto ad arte per mostrare il contenuto. Dall'alto: uova appena deposte, larve in attività trofica sul polline, bozzoli sericei. (Left) Nesting female of *Osmia cornuta* Latr. entering her nest. (write) nest of *Osmia cornuta* opened to show its content. From the top: eggs layed on pollen provisions, larvae feeding on the stored pollen, cocoons.

le seguenti matrici: terreno, polline, bozzolo, feci, ed ape adulta. Ciascuna matrice proveniente da una singola cella è stata pesata mediante una bilancia analitica con precisione del decimo di milligrammo.

Il peso medio di ciascuna matrice proveniente da una singola cella e il numero delle celle pedotrofiche utilizzate ha reso possibile esprimere i risultati in due modi: in mg di metallo per kg di matrice e come microgrammi assoluti nella matrice proveniente da una singola cella pedotrofica.

Il peso secco di ciascuna matrice è stato ottenuto mediante pesatura del campione dopo la completa evaporazione dell'acqua, a sua volta ottenuta per essiccazione in una stufa posta a 105 °C.

Per l'eliminazione totale dell'acqua contenuta nel campione, circa cinque grammi di ciascuna matrice (corrispondenti a circa 20 scorte polliniche, 250 bozzoli, 50 osmie e 100 feci) sono stati messi in una capsula di porcellana preventivamente tarata. La capsula contenente il campione è stata messa in una stufa a 105 °C. Periodicamente, con intervalli di circa un ora, l'intera capsula veniva ancora pesata in modo tale da rilevare cali di peso. Le operazioni di pesatura delle capsule sono state ripetute fino a che non si fossero più registrati cali di peso. Una volta appurata l'assenza di variazioni di peso tra due pesate successive il campione veniva considerato ormai secco (privo di acqua). Di ogni matrice allo stato secco proveniente da ciascuna stazione è stata pesata una quantità variabile fra 0,2 e 1,0 grammi da sottoporre alla mineralizzazione.

Per ciascuna matrice pesata è stato annotato sia il peso secco da sottoporre a mineralizzare (con l'accuratezza del milligrammo) sia il numero di singole celle pedotrofiche da cui l'aliquota della matrice pesata proveniva. Per ogni matrice allo stato secco di cella pedotrofica sono state effettuate tre mineralizzazioni di tre aliquote diverse. La sostanza secca delle matrici è stata poi sottoposte a mineralizzazione. Questo processo si basa sulla solubilizzazione del campione solido per mezzo della decomposizione ossidativa ottenuta con acido nitrico e acqua ossigenata. La mineralizzazione è stata condotta in un forno (mineralizzatore) a microonde (un Millestone della FKV). L'utilizzo del forno a microonde per la mineralizzazione del campione consente di evitare perdite di vapori acidi contenenti il metallo da noi indagato e di accelerare i tempi rispetto al sistema tradizionale (ossidazione condotta all'interno di beute, a cui veniva applicato un refrigerante ad acqua, che venivano poi scaldate con fiamma per portare all'ebollizione la matrice solida con la soluzione acida ossidante) (Skoog et al., 1998).

Ogni aliquota di ciascuna matrice pesata è stata messa all'interno di contenitori (vessel) in teflon, materiale questo resistente agli acidi ed alle alte temperature. A ciascun vessel contenente la matrice accuratamente pesata sono stati aggiunti i reagenti di ossidazione: 2ml di acqua ossigenata a 46 Volumi e 4ml di acido nitrico concentrato. Una volta chiusi tutti i vessel con gli appositi tappi dotati di valvola di sicurezza, questi sono stati inseriti nel mineralizzatore per 20 minuti, tempo questo che ha permesso di raggiungere una temperatura interna ai vessel di 165 °C sufficiente per ottenere la completa solubilizzazione.

Le matrici, così mineralizzate, sono state portate a volume noto con dei matracci tarati con acqua distillata: 25ml per i panetti di polline e per le osmie, 50ml per terreno, bozzoli e feci. Tutte e tre le aliquote di ciascuna matrice di cella pedotrofica,

dopo mineralizzazione acida ossidativa, sono state sottoposte ad analisi quantitativa del piombo mediante spettrometria atomica in emissione al plasma.

Le analisi sono state effettuate con uno spettrometro al plasma della Perkin Elmer, modello Optima 2000 DV. Lo strumento è stato quotidianamente tarato utilizzando sei soluzioni multistandard di piombo, rispettivamente di 25, 50, 100, 500 e 1000 µg/l.

Le soluzioni multistandard di riferimento sono state preparate diluendo una soluzione madre standard da 1000 mg/l.

La quantità di ogni matrice proveniente da un pool di celle pedotrofiche raccolte dai nidi precedentemente rimossi, è stata suddivisa in tre aliquote ciascuna delle quali è stata mineralizzata così da avere almeno tre repliche.

Per la matrice fango i risultati sono stati espressi in mg/kg di sostanza secca, mentre per la sostanza secca delle restanti matrici sono stati espressi in µg assoluti di metallo per singola cella pedotrofica.

Inoltre per il polline i risultati sono stati espressi anche come concentrazione in mg/kg di sostanza secca così da poterli confrontare con i risultati ottenuti da altri Autori per i pollini raccolti da altri pronubi.

Parallelamente alla determinazione della presenza di piombo, sulle scorte polliniche rimaste per la mancata schiusa delle uova di osmia, è stata effettuata un'analisi pollinica volta al riconoscimento della flora locale frequentata dalle femmine di osmia durante la raccolta del cibo. L'analisi pollinica è stata condotta mediante microscopia ottica secondo le metodologie note in letteratura (Louveaux et al., 1978). Dalla scorta pollinica è stata prelevata con una punta di spatola una piccola porzione di polline. L'aliquota pollinica è stata stesa su di un vetrino portaoggetti e dopo esser stata bagnata con poche gocce di gelatina glicerata è stata coperta con il vetrino coprioggetto. Il vetrino così preparato è stato sottoposto ad analisi microscopica per il riconoscimento pollinico. Questo consiste nella determinazione dell'origine botanica del granulo pollinico osservato (analisi qualitativa) e nella determinazione del numero percentuale dei granuli della stessa specie.

Il riconoscimento dei granuli di polline è possibile grazie alle caratteristiche morfologiche, dimensionali e al numero delle aperture presenti nei granuli pollinici.

RISULTATI

La Tab. I mostra i pesi medi delle matrici prelevate dalle singole celle pedotrofiche. Si può vedere come la somma dei pesi medi di osmia, bozzolo e feci sia inferiore (circa 30-40%) rispetto al peso iniziale della corrispondente scorta pollinica (Fig. 3).

La Tab. II riporta i valori medi e la deviazione standard ottenuti per il piombo ritrovato nel fango utilizzato dalle osmie nidificanti per costruire il setto divisorio e nelle scorte polliniche.

Le concentrazioni di piombo rilevate nel fango è inferiore ai limiti di legge (D.M. 471/99) e in linea con le concentrazioni medie dei metalli nel terreno riportate in letteratura (Angelone & Bini, 1992).

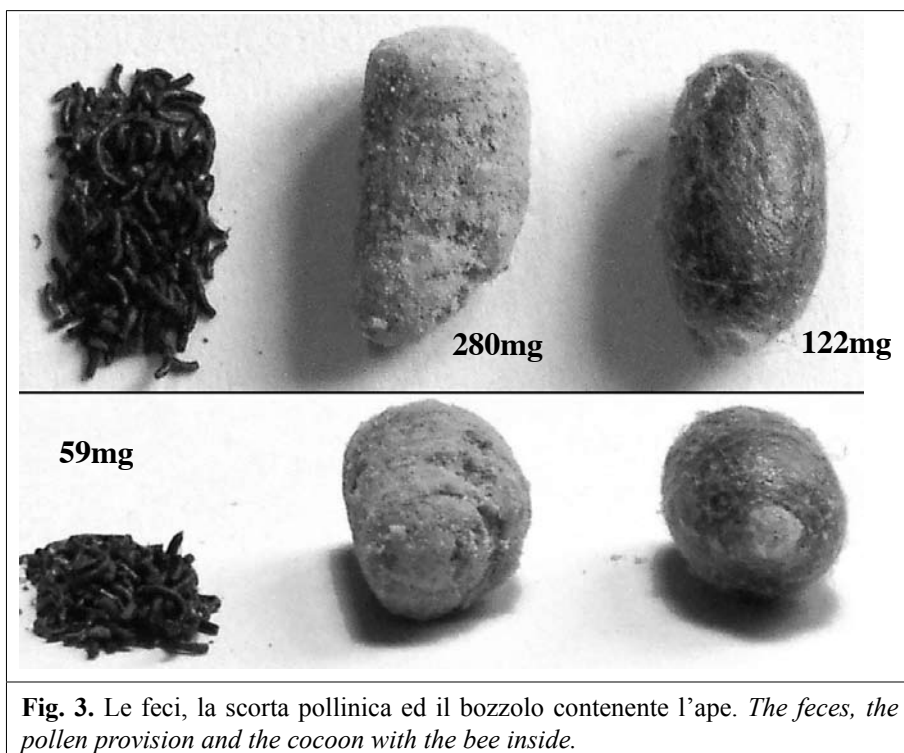


Fig. 3. Le feci, la scorta pollinica ed il bozzolo contenente l'ape. *The feces, the pollen provision and the cocoon with the bee inside.*

Tab. I. Peso medio e deviazione standard delle matrici provenienti da una singola cella pedotrofica. *Average weight and standard deviation of the samples collected from each single pedotrophic cell.*

Matrici - Samples	U.M. - Unit	Fosdinovo	n
Polline - Pollen	mg	280 d.s. 74	50
Osmia - Mason bees	mg	81 d.s. 23	50
Bozzolo - Cocoon	mg	41 d.s. 15	50
Feci - Feces	mg	59 d.s. 19	50

Tab. II. Concentrazione media e deviazione standard di piombo nel terreno e nei pollini raccolti dalle osmie nella località in cui sono stati collocati i nidi. *Average concentration and standard deviation of lead in the soil and the in the pollen collected by Mason bees in the investigated area.*

Matrici - Samples	U.M. - Unit	Fosdinovo	n
Terreno - Ground	mg/kg s.s.	40 d.s. 5,6	20
Polline - Pollen	mg/kg s.s.	1,5 d.s. 0,1	20

In Tab. III sono riportati i risultati medi in µg assoluti e le deviazioni standard, del piombo presente nelle diverse matrici di una singola cella pedotrofica.

Tab. III. Peso medio e deviazione standard del piombo contenuto nelle diverse matrici di una singola cella pedotrofica proveniente dalla località indagata. *Average weight and standard deviation of lead in the samples of a single pedotrophic cell in the investigated area.*

Matrici- Samples	U.M. - Unit	Fosdinovo	n
Polline - Pollen	µg	0,3 d.s. 0,02	20
Osmie – Mason bees	µg	0,1 d.s. 0,02	20
Bozzolo - Cocoon	µg	0,1 d.s. 0,03	20
Feci - Feces	µg	0,1 d.s. 0,03	20

In Tab. IV sono riportati i risultati delle analisi palinologiche che ci indicano la flora frequentata dalle femmine di osmia nella località oggetto di indagine.

Tab. IV. Analisi palinologiche effettuate sui campioni di polline ottenute dalle celle pedotrofiche provenienti dalla località indagata. *Palinological analysis of the pollen collected in the pedotrophic cells sampled in the investigated area.*

Stazione - Place	Specie vegetali – Botanical species	Percentuali - Percent
Fosdinovo	<i>Prunus f.</i>	86%
	<i>Brassica f.</i>	8%
	<i>Ranunculus repens</i>	4%
	<i>Sinapis f.</i>	<1%
	<i>Sambucus nigra</i>	<1%
	<i>Juglans</i>	presenza - presence
	<i>Prunus f.</i>	76%
	<i>Salix</i>	13%

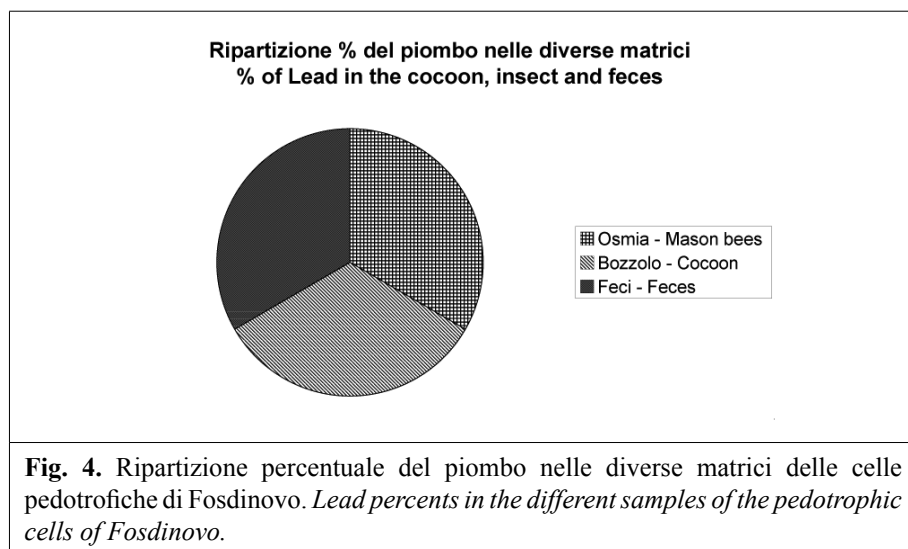
DISCUSSIONE

Il fatto che durante i processi di trasformazione della massa pollinica nell'insetto adulto, nel prodotto secreto dall'insetto (bozzolo) e nel prodotto escreto (feci), si evidenzia una certa perdita di massa (circa il 40%), è spiegabile con la produzione da parte dell'insetto di anidride carbonica e acqua nei processi di respirazione durante il suo sviluppo post-embrionale. Ciò è di particolare interesse se si considera la cella pedotrofica come un sistema chiuso, dove tutto il polline e ciò che con esso viene trasportato nella cella, viene trasformato nelle tre matrici considerate. In quest'ottica tutto il piombo rilevato nel polline, dato che non rientra nei prodotti espulsi con la respirazione, deve potersi ritrovare nelle tre matrici analizzate. Alla luce delle analisi dei risultati ottenuti l'ipotesi risulta effettivamente vera.

Dai risultati delle analisi palinologiche (Tab. IV) si vede come il polline costituente le scorte polliniche raccolto dalle femmine di osmia non provenga dalla stessa specie florale e siano presenti contemporaneamente più specie di fiori diversi. Inoltre il polline raccolto dall'osmia proviene per la maggior parte da *Prunus f.*

Nella bibliografia a disposizione non c'è nessun lavoro che riguardi il flusso di metalli dalle varie parti della pianta (fusto, radici e foglie) al polline che possa permettere di mettere in relazione i metalli presenti nel suolo con quelli nella pianta e nel polline. Molti lavori (Masaru et al., 1980; Roederer & Reiss, 1988; Mc Kinney, 1993) riguardano gli effetti dei metalli nel polline. Mentre le conseguenze di un eccesso di metalli nel polline sono le stesse per la maggior parte delle piante (modifiche nell'emissione del tubetto pollinico), la concentrazione degli stessi ioni metallici nel polline può cambiare notevolmente da pianta a pianta (Lorenzini, 1983).

Dalla Tab. III e dalla Fig. 4 si può notare come il piombo rilevato nelle scorte polliniche si ripartisca in modo equivalente tra il bozzolo, l'insetto e le feci.



Ulteriori studi sono necessari per dire se la ripartizione del piombo all'interno delle tre matrici, osmia, bozzolo e feci, della cella pedotrofica sia influenzata dalla quantità totale di piombo presente nella cella con la scorta pollinica. Sarebbe perciò interessante condurre lo stesso tipo di lavoro indagando stazioni molto inquinate da piombo in modo tale da vedere se con quantità di piombo maggiori, presenti nella singola cella pedotrofica con la scorta pollinica portata dalla femmina di osmia, rispetto a quelle trovate in queste stazioni la ripartizione del piombo fra le matrici della cella cambia.

In questo contesto risulta particolarmente interessante uno studio in cui api nutrite con cibo addizionato di cloruro di piombo, riuscivano ad eliminare al massimo solo un terzo del piombo accumulato (Raes et al., 1992). I nostri valori riscontrati nell'osmia sono in linea con tale lavoro perché il piombo presente nel bozzolo è da considerarsi metallo assimilato e metabolizzato, mentre il piombo veramente eliminato è quello presente nelle feci (circa un terzo).

In conclusione, la cella pedotrofica di *Osmia cornuta* rappresenta un'unità costitutiva di base facilmente campionabile e che consente di rilevare l'elemento piombo presente in aree relativamente circoscritte.

Nel suo insieme, la cella pedotrofica di osmia, in base alle sue caratteristiche di sistema chiuso risulta essere anche un buon modello sperimentale per lo studio di questo metallo nell'organismo ape, così come per lo studio del suo flusso attraverso alcuni comparti ecologici diversi.

L'osmia si rivela un ottimo strumento di campo per l'operatore che intende attuare campagne di monitoraggio di piombo nei terreni. Essa infatti raccoglie i campioni di fango da aree circoscritte e li trasporta tutti in un unico punto (il nido).

Il piombo presente nel terreno è risultato presente anche nelle scorte polliniche e, una volta che queste sono state consumate, anche nel bozzolo, nelle feci e nell'insetto adulto che si è sviluppato nella cella pedotrofica.

La delineaione e descrizione dei processi di trasferimento da un organismo all'altro (polline e insetto) e di ripartizione del metallo indagato da una matrice all'altra permette di proporre la "unità" cella pedotrofica di osmia come utile strumento operativo per il monitoraggio di tale metallo permettendo di dare risposte qualitative e quantitative inerenti la sua presenza in un determinato ambiente e le sue variazioni nel tempo.

Sempre in funzione della precisa descrizione del processo di trasferimento e ripartizione tra i due organismi implicati (polline e insetto) ed in funzione della quantità iniziale di metalli presenti con la scorta pollinica, il secreto (bozzolo) e l'escreto (feci), risultano essere un utile strumento operativo di tipo non invasivo per l'indagine ambientale sul piombo. Sempre però che vengano utilizzati in un tempo successivo alla fuoriuscita dell'adulto dal bozzolo.

In prospettiva risulterà particolarmente interessante estendere questa indagine a:

- metalli diversi;
- altri megachilidi nidificanti in tempi e in condizioni diverse come quelli appartenenti ad altre specie di osmia o ad altri generi quali l'*Heriades*;
- parassiti e parassitoidi, così da aggiungere un ulteriore organismo alla catena trofica e dare quindi una visione più generale del flusso di questi metalli tra organismi diversi ma dipendenti fra di loro.

RINGRAZIAMENTI

Gli Autori desiderano ringraziare il Dr. Cesare Biondi per le analisi palinologiche, Gli apicoltori Elsa ed Adriano Sturli per la loro disponibilità sia per le operazioni di allevamento delle osmie sia per l'allestimento dei nidi per questa indagine. Infine un ringraziamento particolare va al Signor Guido Fornari titolare del laboratorio EcolStudio S.r.L. di Lucca che ha consentito ad uno degli Autori (Mirko Soci) di eseguire liberamente tutte le analisi allo spettrometro.

BIBLIOGRAFIA

- ANGELONE M., BINI C. (1992). Trace elements concentrations in soils and plants of Western Europe. Int. Symp. On environmental contamination in Central and Eastern Europe. Budapest, 1992. Proc. pp. 19-60.
- ANTOGNONI F., CALZONI G.L., PARI E., FONTI P., RONDININI T., FELICOLI A., GNES A. (2005). Bioecologia dell'osmia. XI convegno nazionale A.I.S.A.S.P., Firenze febbraio 2005.
- CELLI G. (1993). L'ape come indicatore biologico. Lettura all'Accademia Nazionale di Entomologia. Firenze, 27.02.1993.
- CELLI G., PORRINI C. (1991). L'ape, un efficace bioindicatore dei pesticidi. Le Scienze n. 274, Giugno 1991, 42-54.
- FELICOLI A. (2000). Le osmie. In Api ed impollinazione a cura di Mauro Pinzaute Regione Toscana (ed), pp. 159-188.
- LORENZINI G. (1983). I vegetali quali indicatori biologici dell'inquinamento atmosferico. Le piante e l'inquinamento dell'aria. Edagricole, pp. 303-322.
- LORENZINI G., PINZAUTI M. (1998). Biomonitoraggio del rischio industriale chimico con piante vascolari, muschi ed api. Atti del seminario interno Gruppo nazionale per la difesa dai rischi chimico-industriali ed ecologici, Roma 1998. GNDRICIE (Istituto di Ricerche sulla Combustione), pp. B/31-B/36.
- LOUVEAUX J., MAURIZIO A., VORWOHL G. (1978). Methods of melissopalynology. Bee World, 59: 139-157.
- MASARU N., KATSUHISA F., SANKICHI T., YUTATA W. (1980). Effects of inorganic components in acid rain on tube elongation of *Camelia* pollen. Environ. Pollut., 21: 51-57.
- MC KINNEY J. (1993). Metals bioavailability and disposition kinetics research needs workshop July 18-19. Toxicology Environmental Chem., 38: 1-71.
- RAES H., CORNELIS R., RZEZNIK U. (1992). Distribution, accumulation and depuration of administered lead in adult honeybees. Sci. Total Environ., 113: 269-279.
- ROEDERER G., REISS H. (1988). Different effects of inorganic and triethyl lead on growth and ultrastructure of lily pollen tubes. Protoplasma, 144: 101-109.
- SKOOG H., WEST J., KOLLER H. (1998). Fundamental of Analytical Chemistry, VII Ed., pp. 659-663.

